

Aus der Abteilung für Experimentelle Endokrinologie,
Universitäts - Frauenklinik
der Johannes Gutenberg - Universität

EINFLUSS VON GLUCOSE-6-PHOSPHATDEHYDROGENASE
AUF DIE BIOSYNTHESE VON STEROIDEN IN DER
MENSCHLICHEN PLACENTA

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Angelika Kreuzer

aus Landau

Mainz 1972

Druck- und Verlagsanstalt

Werner Blasaditsch · 89 Augsburg · Theodor-Heuß-Platz 3 · Telefon (0821) 25563

Printed in Germany

Aus der Abteilung für Experimentelle Endokrinologie,
Universitäts - Frauenklinik
der Johannes Gutenberg - Universität

EINFLUSS VON GLUCOSE-6-PHOSPHATDEHYDROGENASE
AUF DIE BIOSYNTHESE VON STEROIDEN IN DER
MENSCHLICHEN PLACENTA

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen
Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Angelika Kreuzer

aus Landau

Mainz 1972



Dekan: Prof. Dr. K. H. Bäßler
Referent: Prof. Dr. G. W. Oertel
Korreferent: Prof. Dr. V. Friedberg

Inhaltsübersicht

I. Einleitung	1-15
Die Placenta	1
a) Anatomie der Placenta	1
b) Physiologie der Placenta	2
Hormone der fetoplacentaren Einheit	4
a) Choriongonadotropin	4
b) Wachstumshormon-Prolaktin-Komplex	5
c) Gestagene	5
d) Oestrogene	7
Dehydroepiandrosteron und sein Stoffwechsel	9
II. Versuchsbeschreibung	16-19
1. Herstellung der Placenta-Enzympräparation	16
2. Bestimmung der Glucose-6-phosphatdehydrogenase-Aktivität	16
3. Isolierung der Steroid-sulfatide	17
a) Extraktion freier Steroide	
b) Extraktion der Steroidkonjugate	
c) Trennung der Steroidkonjugate durch Säulenchromatographie	
4. Isolierung der Oestrogene	18
5. Isolierung der neutralen Steroide	19

III. Ergebnisse	20-27
1. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA in Placentahomogenat	20
2. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA- sulfat in Placentahomogenat	22
3. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA- sulfatid in Placentahomogenat	24
4. Ausbeute an Oestrogenen	26
IV. Diskussion	28-31
V. Zusammenfassung	32
VI. Literaturübersicht	33-41

Verwendete Abkürzungen

Ätiocholanolon	3 Δ -Hydroxy-5 β -androstan-17-on
Androstendiol	5-Androsten-3 β ,17 β -diol
Androstendion	4-Androsten-3,17-dion
Androstentriol	5-Androsten-3 β ,16 Δ ,17 β -triol
Androsteron	3-Hydroxy-5 Δ -androstan-17-on
DHEA	3 β -Hydroxy-5-androsten-17-on
EDTA	Ethylendiamine-tetraacetat
G-6-P	Glukose-6-phosphat



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554401_0043

I. EINLEITUNG

Die Placenta

a) Anatomie der Placenta

Die Placenta ist ein ebenso kompliziert gebautes wie funktionell vielseitiges Organ. Sie erwächst aus dem Zusammenwirken von Uterusschleimhaut und Chorion des Keimes. Die Placenta besteht somit aus materalen und fetalen Gewebeteilen. Ziel der Placentation ist es, die biologische Individualität des Keimlings bei möglichst engem Kontakt des materalen und fetalen Gefäßsystems zu gewähren. Die Placenta ist somit ein Organ der Trennung und des wechselseitigen Austausches (51).

Die anfangs plump, später immer feiner verzweigten Chorionzotten, die das implantierte Ei umgeben, bestehen aus embryonalem Mesoderm und dem ektodermaalen, auf einer Basalmembran ruhenden Trophoblastüberzug. An letzterem ist in den ersten Schwangerschaftsmonaten eine tiefere, mit deutlichen Epithelgrenzen ausgestattete Epithelschicht - der Zytotrophoblast (Langhans-Schicht) - und eine äußere Syncytiumschicht zu unterscheiden, die der Zellgrenzen entbehrt. Vom vierten Monat an schwindet die Epithelschicht. Nunmehr trägt die Zotte lediglich den Syncytiumüberzug (48).

Die vordringenden Chorionzotten vermitteln nach ihrer Ausstattung mit fetalen Blutgefäßen nicht nur den Stoffaustausch zwischen fetalem und mütterlichem Kreislauf, sondern verankern auch den Keim im Endometrium durch Haftzotten (1).

Die reife Placenta ist ein scheibenförmiges Organ von meist kreisrunder Form mit einem Durchmesser

von etwa 20 cm und einer Dicke von etwa 3 cm und von schwammiger Konsistenz. Sie wiegt mit Nabelschnur ohne Eihäute circa 500 g (48).

Man unterscheidet an der reifen Placenta eine fetale Seite, die durch das opake, transparente Amnion mit spiegelnder Oberfläche und durch den Nabelschnuransatz gekennzeichnet ist und eine mütterliche Seite, die in viele Karunkel unterteilt ist (51).

Zwischen der aus Trophoblast bestehenden Chorionplatte und der im Endometrium verankerten Basalplatte dehnt sich der intervillöse Raum aus. Die Auskleidung bildet der Syncytiotrophoblast des Keimlings, sein Inhalt das mütterliche Blut (1).

b) Physiologie der Placenta

In ihrer kurzen, selbst limitierten Lebensspanne erfüllt die Placenta eine erstaunliche Vielzahl von metabolischen und endokrinen Funktionen.

Zunächst ist sie ein Organ des Gasaustausches, wobei sie eine der Lunge vergleichbare Rolle übernimmt. Dann scheidet sie überflüssige Produkte aus und ahmt so die renalen Funktionen nach. Sie filtert und entgiftet schädliche Produkte, sammelt und synthetisiert Substanzen, die für das Wachstum des Feten notwendig sind; so wie die Leber nach der Geburt. Sie besitzt Zellen mit immunologischen Fähigkeiten wie Milz oder Thymus. Sie ist das hauptsächliche Transportsystem für Nahrung, welche für das Wachstum des Feten notwendig ist, eine Funktion, vergleichbar der des Intestinaltraktes (41).

Die für die Ernährung des Feten notwendigen Stoffe treten größtenteils nach physikalischen Gesetzen aus dem intervillösen Raum durch die Chorion-

schranke in den embryonalen Kreislauf über. Dies gilt z. B. für den Übertritt von Kohlehydraten, der in beiden Richtungen erfolgen kann. Das Verhalten der Placentarschranke gegenüber Eiweißkörpern ist außerordentlich verschieden, d. h., der Zottenüberzug trifft eine Auswahl. Die für den Bau des kindlichen Organismus erforderlichen Eiweißbausteine passieren in Form von Aminosäuren; hochmolekularen, maternalen Eiweißen hingegen ist der Übertritt unmöglich mit Ausnahme von manchen Hormonen und Antikörpern, welche letzteren dem Kind einen Immunitätsschutz verleihen (1).

Der Stoffaufnahme durch das Chorion wird zunächst die sehr reiche Kapillarisierung der Zotten und Zottenstämme gerecht. Die Resorption erfolgt durch die Mikrovilli des Syncytiums, die Austauschvorgänge durch passive Stoffbewegungen und aktiven Stofftransport.

Der diaplacentare Gasaustausch geschieht durch einfache Diffusion. Der Transfer von Glukose und Milchsäure wird als "erleichterte Diffusion" bezeichnet, die durch eine Beschleunigung des Transportes gekennzeichnet ist.

Blutzellen und Makroglobuline gelangen per diapedesim durch die Placentarschranke.

Für bestimmte Stoffe ist der Transfer nur mit Hilfe einer aktiven Zelleistung möglich. Der aktive Transport kann mit dem Umbau des betreffenden Stoffes verbunden sein. Er erfolgt entweder durch Pinozytose, wie bei Proteinen, Lipoiden und Makroglobulinen oder über enzymatische Prozesse, wie bei anorganischen Ionen und Aminosäuren (51). Schließlich ist die Placenta noch ein umfassendes endokrines Organ, das eine Menge von Steroid- und Proteohormonen synthetisiert, die nicht nur auf den Metabolismus des

Feten, sondern auch auf den der Mutter einwirken (43).

Hormone der fetoplacentaren Einheit

Die endokrine Funktion der Placenta ist charakterisiert durch die Bildung folgender Hormone:

- a) Choriongonadotropin (HCG = human chorionic gonadotropine)
- b) Komplex von somatotropen und luteotropen Hormonen
- c) Progesteron und Oestrogene

Alle diese placentaren Hormone gelangen einerseits in den mütterlichen Kreislauf, andererseits über die Nabelvenen auch in den fetalen Organismus. Dieser wiederum verstoffwechselt die zugeführten Hormone, so daß sie in teilweise umgewandelter Form durch die Nabelarterie wieder zur Placenta zurückgeführt werden. Auf diese Weise entsteht ein Funktionskreis, den man als "fetoplacentare Einheit" bezeichnet (13).

a) Das Choriongonadotropin

Das erste Hormon, das in der Gravidität in größeren Mengen in der Placenta gebildet wird und auch im Blut und Urin nachweisbar ist, ist das Choriongonadotropin. Es weist eine stark luteotrope Wirkung auf. Seine Bedeutung liegt in der Funktionserhaltung des Corpus luteum, welches die Progesteron- und Oestrogensynthese weiterhin gewährleistet (39).

Chemische Struktur und biologische Wirkung entsprechen weitgehend derjenigen von hypophysärem Lu-

teinisierungshormon.

Als Bildungsstätte von HCG kommen hauptsächlich die Langhanszellen sowie die großen Trophoblastzellen der Basalplatte der Placenta in Frage (43).

Die Konzentration von HCG im mütterlichen Organismus zeigt ihr Maximum zwischen der 8. und 11. Schwangerschaftswoche, um dann rasch abzufallen (13, 39).

b) Der Wachstumshormon-Prolaktin-Komplex

Der Wachstumshormon (HGH = human growth hormone)-Prolaktin-Komplex stellt ein Protein dar und ist dem hypophysären Wachstumshormon ähnlich, aber nicht mit ihm identisch. Das betreffende Proteohormon wird auch HPL (human placenta lactogen) genannt. Seine Bildungsstätte ist der Syncytiotrophoblast. Die Konzentration nimmt im Verlauf der Schwangerschaft sowohl im Serum als auch im Harn der Mutter zu. Der Komplex hat eine luteotrope und wachstumshormonähnliche Wirkung, die für die Entwicklung des Feten von Bedeutung ist (13).

c) Gestagene

Die Hauptwirkungen der Gestagene in der Gravidität bestehen in der Verhinderung weiterer Eireifungen, Ovulationen und der menstruellen Blutung, in der Ausbildung der Dezidua und in der Förderung des Wachstums der Uterusmuskulatur. Unter ihrem Einfluß kommt es weiter zu einem Wachstum der Brust und zu ihrer Vorbereitung zur Laktation (13).

Progesteron wird im Corpus luteum graviditatis und von Anfang an auch im Trophoblasten gebildet. Schon im zweiten Monat reicht die Eigenproduktion

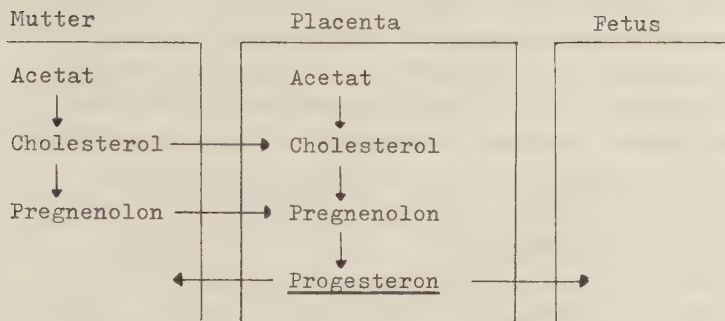
des syncytialen Chorionepithels zur Erhaltung der Schwangerschaft aus (13). Während der Schwangerschaft steigt der Gesamtgehalt an Progesteron in der Placenta kontinuierlich an (52, 40). Vorstufen der Biosynthese des Progesterons sind Cholesterin und Pregnenolon (40, 16, 35). Letzteres wird durch die Enzyme 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase und

4,5-Isomerase in Progesteron umgewandelt. Dieses Enzymsystem ist in der Placenta in reichem Maße vorhanden (44).

Da die Placenta große Mengen von Progesteron produziert, aber nur kleine Mengen von Cholesterol, kamen Solomon u. Mitarb. (37) zu dem Schluß, daß mütterliches Cholesterol der Hauptvorläufer von placentarem Pregnenolon und Progesteron ist. Progesteron wird von der Placenta an das Blut abgegeben. Es gelangt jedoch nicht nur in den mütterlichen Organismus, sondern betritt auch in verhältnismäßig großen Mengen den fetalen Organismus mit dem Umbilicalvenenblut, wo es zu 16 β -Hydroxyprogesteron, 6 β -Hydroxyprogesteron, 17 β -Hydroxyprogesteron, Desoxycorticosteron und Corticosteron sowie den Sulfaten letzterer Verbindungen und den Reduktionsprodukten 4-Pregnen-20-one und 4-Pregnen-20 β -one metabolisiert wird (38, 37). Diese Metaboliten gelangen dann durch die Umbilicalarterie in die Placenta (38, 37, 53). Progesteron kann von vielen fetalen Geweben metabolisiert werden, doch scheinen Leber und Nebennierenrinde die Hauptorte des Metabolismus zu sein (37).

Ein definitives Abbauprodukt des Progesterons ist das Pregnandiol, das im Schwangerenurin in großen Mengen ausgeschieden wird.

Schema der Progesteronbildung



nach: ZANDER, J.: Die Hormone der Placenta
in: Gynaekologie und Geburtshilfe II,
hrsg. von O. Käser u.a., Stuttgart 1967

d) Oestrogene

Die Placenta enthält die drei natürlichen Oestrogene Oestron, 17 β -Oestradiol und Oestriol und zwar vorwiegend in freier Form. Oestron und Oestriol sind schon in Placenten vom 3. und 4. Schwangerschaftsmonat vorhanden (52).

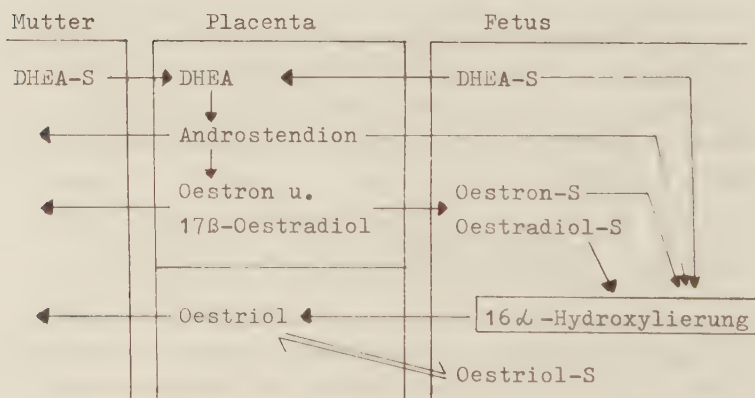
Die Konzentration der Oestrogene in der Placenta nimmt im Verlauf der Schwangerschaft rasch zu (7).

Synthese und Stoffwechsel der Oestrogene sind in besonderem Maße von der fetoplacentaren Einheit abhängig (40). Als Bildungsstätte der Oestrogene als Endprodukt der Steroidbiogenese gilt ebenfalls das Syncytium; seine Enzyme reichen aber - jedenfalls ab zweitem Schwangerschaftsdrittel - für die Totalsynthese offenbar nicht aus (40).

Für die Biosynthese werden Vorstufen benötigt, insbesondere Dehydroepiandrosteron, die von der

mütterlichen und/oder fetalen Nebennierenrinde gebildet werden (42). Diese Steroidvorläufer werden in der Placenta hydroxyliert und dehydriert (8), so daß bei Aromatisierung des Ringes A Oestron und 17 β -Oestradiol entstehen (40). Oestron und Oestradiol werden sowohl in den mütterlichen als auch in den fetalen Kreislauf sezerniert und beim Übertritt in den Feten sofort sulfuryliert. In der fetalen Leber findet dann 16 Δ -Hydroxylierung statt (50, 21, 22). Die entsprechenden C₁₉-Steroide werden wie Androstendion oder Testosteron von der Placenta in phenolische Verbindungen umgewandelt. Das u. a. entstandene Oestriol sezerniert die Placenta sowohl in den mütterlichen als auch in den kindlichen Kreislauf (8).

Schema der Oestrogenbildung (8)



Der fetale Anteil wird erneut sulfuryliert und als Oestriol-3-sulfat in die Placenta überführt, das vor dem Transfer in den mütterlichen Kreislauf der Hydrolyse zu freiem Steroid unterliegt (8, 34).

Diczfalusy (8) läßt eine weitere Möglichkeit der Oestriolsynthese offen, die ausgehend von Pregnenolon über Progesteron $\rightarrow$ 17α -Hydroxyprogesteron und Androstendion verlaufen könnte. Eine zusätzliche Möglichkeit der Oestriolsynthese besteht in der Umwandlung von fetalem oder mütterlichem DHEA-sulfat in der Placenta (34).

Die Placentabarriere ist nur für nichtkonjugierte Oestrogene durchlässig, so daß sich in der Placenta die Oestrogene nur in ihrer freien biologisch wirksamen Form finden. Dagegen zirkulieren im Feten vorwiegend konjugierte Oestrogene. Durch die Sulfatbindung wird der Fet gegen die biologischen Oestrogeneffekte weitgehend geschützt (40).

Dehydroepiandrosteron und sein Stoffwechsel

Dehydroepiandrosteron (3 β -Hydroxy-5-androsten-17-on, DHEA) stellt das mengenmäßig wichtigste Steroid im menschlichen Blut dar (23). Bei einer täglichen Produktionsrate von 10-40 mg (23, 10, 19) erreicht die Konzentration dieses C₁₉-Steroids im Plasma gesunder Männer und Frauen Werte bis zu 250 μ g bzw. 150 μ g/100 ml (23, 10).

DHEA entsteht aus Cholesterin über die Zwischenstufe Pregnenolon in der Nebennierenrinde (12). Während der Schwangerschaft wird DHEA auch im Feten aus Pregnenolon synthetisiert, das der Placenta entstammt (37). Ebenso entstehen DHEA-sulfat und 17α -Hydroxypregnenolon-sulfat (8).

Während die eigentlichen Steroidhormone der Nebennierenrinde und der Gonaden ihre spezifische Wirkung als freie Verbindungen entfalten, liegt DHEA im menschlichen Blut fast ausschließlich als Sulfokonjugat vor (23, 19, 3).

Dorfman und Ungar (10) nehmen an, daß DHEA-sulfat das hauptsächlichste Sekretionsprodukt der Nebennierenrinde darstellt. Baulieu (2) vertrat nach Untersuchung von Nebennierenrindentumorgewebe 1962 die Meinung, daß zunächst freies DHEA produziert wird und erst in einem zweiten Schritt die Sulfatkonjugation erfolgt. Auf Grund vergleichsweise höherer Konzentrationen des DHEA-sulfokonjugates im Nebennierenvenenblut zeigte Oertel (25) 1964, daß DHEA wie Pregnenolon und 17-Hydroxypregnenolon nicht nur als freies Steroid, sondern vor allem als lipophiles, solvolysierbares Konjugat von der Nebennierenrinde sezerniert wird. Auf Grund ausgedehnter analytischer Untersuchungen wurde diesem Sulfokonjugat die Struktur eines Sulfatids, d. h. eines DHEA-esters der Sulfatidsäure oder Diglyceridschwefelsäure zugeschrieben.

Weiterhin kommt derselbe Verfasser zu dem Schluß, daß es sich bei den Steroid-sulfatiden möglicherweise um die im Organismus benötigte Wirkform eines Enzymregulators handelt (24).

Im Blut scheint das lipophile DHEA-sulfatid mit Albumin assoziiert zu sein (31). Der Metabolismus des sulfokonjugierten DHEA's entspricht in qualitativer Hinsicht dem des freien DHEA's oder des DHEA-glucuronosids, d. h., es treten die gleichen Stoffwechselprodukte auf (23, 10, 17).

Inwieweit die quantitativen Zusammenhänge zwischen Substrat und Metaboliten von einem komplizierten Gleichgewicht:

$$\text{Steroid-sulfatid} \rightleftharpoons \text{Steroid-sulfat} \rightleftharpoons \text{freies Steroid} \rightleftharpoons \text{Steroid-glucuronosid}$$

abhängen, wird noch diskutiert (23).

Eine im Nebennierenrindengewebe nachgewiesene Sulfataseaktivität führt zu der Annahme, daß freies DHEA und sein Sulfat ineinander umwandelbar sind (10).

Macdonald u. Mitarb. (19) stellten in diesem Zusammenhang fest, daß nach exogener Gabe von DHEA nur ein Teil des zugeführten Steroids als freie Verbindung im Harn erscheint und diskutieren ein Puffersystem DHEA - DHEA-sulfat.

Wie Kellie (14) und Roberts u. Mitarb. (32) gezeigt haben, erfolgt nach Verabreichung von DHEA-sulfat beim Menschen in vivo ein Anstieg von Androsteron- und Ätiocholanolon-glucuronosid im Urin. Daraus geht hervor, daß DHEA-sulfat hydrolysiert und die Metaboliten des freigesetzten DHEA's mit Glucuronsäure konjugiert werden.

Der Metabolismus des DHEA-sulfatids erfolgt vornehmlich auf direktem Weg ohne vorherige Spaltung des Konjugats (27). So fanden Döllefeld und Breuer (9), daß ein Teil des im Körper sezernierten DHEA-sulfats als solches ausgeschieden wird, bevor eine Hydrolyse zum freien Steroid eintritt. Ebenso konnten Oertel und Menzel (28) nach oraler Gabe von DHEA-sulfat im Harn männlicher und weiblicher Versuchspersonen eine Zunahme von Oestrogenen und Testosteron nachweisen, die vor allem die Fraktion der Sulfokongugate betraf.

Die Gegenwart von Sulfatasen im testiculären Gewebe (10) deuten die Möglichkeit einer Nutzung des großen Blutgehalts an DHEA-sulfat bzw. DHEA-sulfatid für die Testosteronbiosynthese an. Über eine Dehydrierung im Ring A zur Oxydationsstufe des Androstendions (4-Androsten-3,17-dion) (10) führt ein Weg zu Testosteron, außerdem zu 5 α -Androstan-3,17-dion und 5 β -Androstan-3,17-dion. Die beiden letzteren

Produkte werden umgewandelt zu den 17-Ketosteroiden Androsteron (3 α -Hydroxy-5 α -androstan-17-on) und Ätiocholanolon (3 α -Hydroxy-5 β -androstan-17-on) (10), die zu den bedeutendsten Metaboliten gehören und sowohl im Harn (4), als auch durch die Haut ausgeschieden werden (30). Weitere Metaboliten des DHEA sind 5-Androsten-3 β ,17 β -diol und 5-Androsten-3 β ,16 α ,17 β -triol, wobei ersteres wiederum durch Dehydrierung in Ring A zu Testosteron umgewandelt werden kann (10). Testosteron und Androstendion aber, die wie ihre Vorstufen DHEA und Androstendiol einem durch 17 β -Hydroxy-steroid-dehydrogenase gesteuerten Redoxgleichgewicht unterliegen, sind ebenso als Vorstufen für die Biosynthese von Oestrogenen bekannt (23, 49, 36). So wird Testosteron in der mitochondrialen und mikrosomalen Fraktion der Placenta in Oestron und Oestradiol-17 β umgewandelt (33).

Während also auf der einen Seite das Sulfokongugat des Androstendions einer fortschreitenden Reduktion zu gesättigten C₁₉-Steroiden unterliegt, führen Hydroxylierung der Δ^5 -3 β -Hydroxy- und Δ^4 -3-Ketosteroide an C₁₉, Dehydrierung und Aromatisierung andererseits schließlich zu sulfokonjugierten Oestrogenen (31).

Bolté und Mitarb. (6) ebenso wie Baulieu und Dray (5) konnten in in-vivo Experimenten mit Placenta eine mengenmäßig bedeutenden Biosynthese von Oestrogenen aus DHEA-sulfat feststellen. Oertel, Groot und Wenzel (26) zeigten durch Versuche an Meerschweinchen, daß DHEA-sulfatid ein bevorzugter Präkursor von Oestrogenen ist.

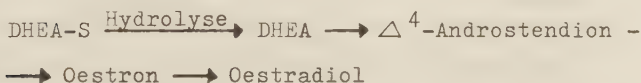
Bolté und Mitarb. (6) fanden überdies nur eine beschränkte Durchlässigkeit der Placentazellen für DHEA-sulfat und postulierten eine Sulfataseaktivität, die erst freigesetztes DHEA für die placentare Aroma-

tisation verwertbar macht. Warren und Timberlake (47) stellten ferner fest, daß menschliches Placentagewebe eine 3β -Hydroxy- Δ^5 -steroidsulfatase enthält, die DHEA-sulfat rasch hydrolysiert.

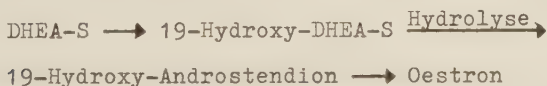
Logan und Warren (18) untersuchten sodann die Hydrolyse des DHEA-sulfats und kamen zu der Vorstellung, daß die placentare Steroidsulfatase gleichzeitig die Funktion einer Sulfokinase besitzt.

In Anbetracht der Tatsache, daß freies DHEA ebenso in Oestrogene umgewandelt werden kann wie das sulfokonjugierte Steroid (47), bestehen sicher verschiedene Wege für die Bildung placentarer Oestrogene.

Baulieu und Dray (5) schlugen folgenden Weg vor:



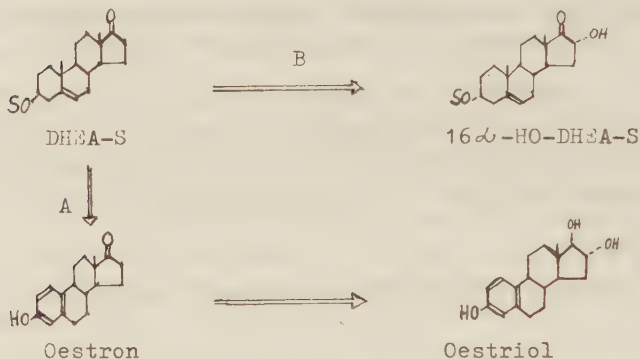
Harper (11) postuliert dagegen vornehmlich den Weg:



und stellt die Überlegung an, ob DHEA vor der Metabolisierung einer Sulfurylierung unterliegt, da man bei DHEA-sulfat als Substrat eine größere Konversionsrate zu Oestrogenen fand als bei Verwendung der freien Verbindungen.

Die beiden Hauptschritte, die DHEA und sein Sulfat bei der Umwandlung zu Oestriol durchlaufen müssen, sind 16α -Hydroxylierung und Aromatisierung des Ringes A.

Nakayama (20) schließlich fordert zwei Wege für die Bildung von Oestriol: Weg A mit einer Aromatisierung als erstem Schritt und Weg B mit einer 16 α -Hydroxylierung als erstem Schritt. Kirschner u. a. (15) zeigten, daß beide Wege im fetoplacentaren Kreislauf beschrifteten werden, wobei Weg A auf der mütterlichen Seite überwiegt.



Nakayama (20) konnte schließlich in Experimenten feststellen, daß die Synthese von Oestriol aus DHEA in der fetoplacentaren Einheit vorzugsweise durch 16 α -Hydroxylierung und nachträgliche Aromatisierung erfolgt.

Auch bei in-vivo Versuchen fand man, daß DHEA-sulfat im fetoplacentaren Kreislauf besser aromatisiert wird als im mütterlichen Kreislauf (9). Außerdem begünstigen die Wege, die beim Metabolismus des DHEA-sulfats in der fetoplacentaren Einheit beschrifteten werden, die Bildung von Oestriol gegenüber der von Oestrone und 17 β -Oestradiol weit mehr als jene Wege, die den Metabolismus dieses Präkursors in der mütterlichen Zirkulation beherrschen (8).

II. Versuchsbeschreibung

1. Herstellung der Placenta-Enzympräparation

Frisches Placentagewebe wurde mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und gewaschen, um Blutreste weitgehend zu entfernen. Anschließend wurden 100 g abgewogen und mit 400 ml 0,9% NaCl/ 0,025% EDTA im gekühlten Homogenisator (Ultra-Turrax, Jahnke & Kunkel, Staufen) homogenisiert.

Die Suspension wurde 20 Minuten bei 1 500 g und 0°C zentrifugiert und der Überstand dekantiert.

2. Bestimmung der Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Aktivität ⁺

Leerwert und Proben wurden wie folgt angesetzt:
Der Leerwert bestand aus 0,5 ml Zentrifugat, 1,9 ml Puffer (0,05 M Triäthanolaminpuffer/ 0,005 M EDTA; pH = 7,6), 0,5 ml 0,01 M NADP⁺, 0,02 ml Dioxan, 0,25 ml 0,031 M Glucose-6-phosphat.

Die Proben enthielten 0,5 ml Zentrifugat, 1,9 ml Puffer, 0,5 ml NADP⁺-Lösung, 0,02 ml Dioxan mit markiertem Steroid (7 α -³H-DHEA, 7 α -³H-DHEA-sulfat oder 7 α -³H-DHEA-sulfatid) und 0,25 ml Glucose-6-phosphat-Lösung.

Die endgültige Konzentration des Steroids bzw. Steroid-Konjugats entsprach einer 10⁻⁵ M Lösung.

⁺ Biochemica-Test-Combination von Boehringer,
Mannheim, GmbH

Die Aktivität wurde durch Messung der Extinktionsänderung bei 366 nm über 10 Minuten bei 25°C ermittelt. Anschließend bebrütete man weitere 20 Minuten bei 25°C.

3. Isolierung der Steroid-sulfatide (29)

a) Extraktion freier Steroide

Das Zentrifugat wurde zwecks Entfernung der freien Steroide dreimal mit je 2 Vol Äther extrahiert. Aus der Ätherphase wurden mit 1n Natronlauge die Oestrogene extrahiert.

b) Extraktion der Steroidkonjugate

Zur präextrahierten Probe gab man unter stetem Schütteln 4 Vol Aceton, ließ sie 60 Minuten bei 37°C stehen und filtrierte das Eiweiß ab. Das Filtrat wurde mit 8 Vol Diisopropyläther und 2 Vol Butanol-(2) - bezogen auf das Ausgangsvolumen der Probe - verdünnt, im Falle lipoidarmer Extrakte wie hier, mit 0,1 ml 0,1% Tripalmitin in Diisopropyläther pro ml Ausgangsmaterial, sowie mit genügend wasserfreiem Natriumsulfat versetzt und nach weiteren 60 Minuten bei 37°C erneut filtriert. Der Rückstand wurde mit Diisopropyläther-Butanol-(2) (4:1 v/v) gewaschen und das entwässerte Filtrat im Rotationsverdampfer bei maximal 37°C zur Trockne eingedampft.

c) Trennung der Steroidkonjugate durch Säulenchromatographie an Polyamid

Der Rückstand wurde mittels wenig Cyclohexan-

Diisopropyläther (1:1 v/v) quantitativ auf die im gleichen Lösungsmittelgemisch zubereitete Säule aus Polyamid SC-6 (Machery, Magel & Co., Düren) überführt.

Die Elution der Säule erfolgte mit 50 ml Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v), 25 ml Diisopropyläther-Methanol (1:1 v/v), 25 ml Methanol und 25 ml Methanol-Salzsäure (99:1 v/v). In den beiden ersten Eluatn befanden sich die lipophilen Steroid-sulfatide, im letzten Eluat die Steroid-sulfate und Steroid-glucuronoside. Zu den Sulfatiden wurde 1 Tropfen Eisessig zwecks Abspaltung des Diglycerids hinzugefügt und eingedampft. Dann gab man Äther-Perchlorsäure (100:1 v/v) zur Solvolyse hinzu.

Das Eluat mit den Sulfaten und Glucuronosiden wurde mit 1 Tropfen 25% Ammoniak conc. zur Neutralisation versetzt und ebenfalls eingedampft.

Die Glucuronoside wurden nun einer Schwefelsäure-Solvolyse in Äthylacetat unterworfen. Anschließend wusch man mit Wasser und extrahierte mit 1n Natronlauge die anfangs als Glucuronide oder Sulfate vorliegenden Oestrogene.

4. Isolierung der Oestrogene

Die Oestrogen-haltigen Fraktionen wurden mit konz. Salzsäure angesäuert und mit Natriumbicarbonat auf pH 8-8,5 eingestellt. Dann extrahierte man die Oestrogene mit Äther, dampfte ein und überführte den Rückstand mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) auf eine Kieselgel G-Platte (0,25 mm; MERCK AG, Darmstadt). Die Entwicklung des Chromatogramms geschah in Äthylacetat-Cyclohexan (1:1 v/v).

Anschließend wurden die einzelnen Fraktionen (Oestron, Oestradiol, Oestriol) abgekratzt, mit Chloroform-Methanol (9:1 v/v) eluiert und zur Trockne eingedampft. Es schloß sich eine zweite Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-G in Chloroform-Dioxan (94:6 v/v) an. In einem Aliquot der isolierten Oestrogene bestimmte man die ^3H -Aktivität unter Verwendung von 0,1 ml Methanol und 20 ml Szintillationsflüssigkeit im Packard-Tricarb Spektrometer 3010 durch statistisch auswertbare Mehrfachzählung der einzelnen Proben.

5. Isolierung der neutralen Steroide

Die Fraktionen mit neutralen Steroiden (DHEA, Androstendiol, Androstentriol, Androstendion) wurden eingedampft und mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) auf Kieselgel-G-Platten aufgetragen. Die Entwicklung des Chromatogramms erfolgte im Lösungsmittelsystem Chloroform-Dioxan (94:6 v/v). Es wurden die den Standardverbindungen entsprechenden Fraktionen abgekratzt, mit Chloroform-Methanol (9:1 v/v) eluiert und die Eluate eingedampft. Die Überführung der ketonischen Steroide in 2, 4-Dinitrophenylhydrazon geschah wie an anderer Stelle ausführlich beschrieben (45). Die alkoholischen Steroide (Androstendiol, Androstentriol) wurden in Acetate umgewandelt. Während man erstere Derivate der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-G in Chloroform-Dioxan (94:6 v/v) unterzog, liessen sich die Acetate der alkoholischen Steroide dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel-G mit Cyclohexan-Äthylacetat (1:3 v/v) isolieren. Die Bestimmung der ^3H -Aktivität in aliquoten Teilen isolierter Verbindungen erfolgte im Packard-Tricarb Spektrometer 3010 wie oben dargelegt.

III. Ergebnisse

Tab. 1. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA
in Placentahomogenat

STEROID	Ausbeute in % eingesetzter ^3H -Aktivität			
	a) ohne G-6-P		b) mit G-6-P	
	frei	konjugiert	frei	konjugiert
Dehydroepi- androsteron	70,85		57,00	
Androsten- diol	2,16		5,94	
Androsten- triol	0,50		1,33	
Androsten- dion	1,80		0,32	
Oestron	0,49		0,14	
Oestradiol	0,23		1,25	
Oestriol	0,20		0,68	
GESAMT	76,23	2,36	66,36	1,77

1. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA in Placentahomogenat

Tab. 1 gibt die Ausbeute in % eingesetzter Aktivität bei der Inkubation von 7α - ^3H -DHEA in Placentahomogenat wieder. Wie die Tabelle zeigt, wurden ohne Zusatz von Glucose-6-phosphat 78,59% der ^3H -Aktivität wiedergefunden, davon 76,23% in Form freier Steroide und 2,36% als Konjugate.

Bei Zusatz von Glucose-6-phosphat wurden insgesamt 68,13% ^3H -Aktivität wiedergefunden, davon 66,36% als freie Steroide und 1,77% in Form von Konjugaten.

Aus der Fraktion der freien Steroide wurden sodann durch Dünnschichtchromatographie verschiedene Einzelverbindungen isoliert und bestimmt.

Die Tritium-Aktivität der Konjugate war zu gering, als daß sich eine ausreichende Charakterisierung entstandener Metaboliten durchführen ließ, so daß eine weitere Auswertung unterblieb.

Tab. 2. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA-sulfat
in Placentahomogenat

STEROID	Ausbeute in % eingesetzter ^3H -Aktivität			
	a) ohne G-6-P		b) mit G-6-P	
	frei	konjugiert	frei	konjugiert
Dehydroepi- androsteron	28,33	41,73	25,87	37,23
Androsten- diol	1,71	2,42	3,39	3,32
Androsten- triol	0,92	1,25	1,37	2,46
Androsten- dion	1,62	1,14	0,22	0,46
Oestron	0,38	0,28	0,23	0,13
Oestradiol	0,30	0,32	0,82	0,94
Oestriol	0,17	0,23	0,70	0,93
GESAMT	33,43	47,37	32,60	45,47

2. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA-sulfat in Placentahomogenat

Tab. 2 enthält die Ausbeute in % eingesetzter ^3H -Aktivität aus den Inkubaten mit 7α - ^3H -DHEA-sulfat in Abwesenheit (a) oder Gegenwart (b) von Glucose-6-phosphat.

Es konnten aus der Probe ohne Glucose-6-phosphat-Zusatz insgesamt 80,80% Tritium-Aktivität zurückgewonnen werden, wovon 33,43% den freien Steroiden und 47,37% den konjugierten Steroiden angehörten.

Bei der Probe mit Zusatz von Glucose-6-phosphat fand man insgesamt 78,07% der ^3H -Aktivität wieder, davon 32,60% in freien und 45,47% in konjugierten Steroiden.

Tab. 3. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA-sulfatid
in Placentahomogenat

STEROID	Ausbeute in % eingesetzter ^3H -Aktivität			
	a) ohne G-6-P		b) mit G-6-P	
	frei	konjugiert	frei	konjugiert
Dehydroepi- androsteron	22,71	46,42	23,96	35,91
Androsten- diol	1,69	1,20	3,13	5,62
Androsten- triol	0,31	0,72	1,77	2,67
Androsten- dion	0,70	1,34	0,33	0,45
Oestron	1,54	1,16	0,28	0,34
Oestradiol	0,48	0,39	1,36	2,06
Oestriol	0,23	0,28	1,18	1,47
GESAMT	27,66	51,51	32,01	48,52

3. Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA-sulfatid
in Placentahomogenat

In Tab. 3 wird der Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA-sulfatid in Placentahomogenat dargestellt.

Bei dem Versuch ohne Glucose-6-phosphat-Zusatz belief sich die Ausbeute an ^3H auf insgesamt 79,17% der eingesetzten ^3H -Aktivität. Hiervon entfielen 27,66% auf die freien und 51,51% auf die konjugierten Steroide.

Bei dem Versuch mit Glucose-6-phosphat-Zusatz wurden insgesamt 80,53% der eingesetzten ^3H -Aktivität wiedergefunden und zwar 32,01% in Form von freien und 48,52% in Form von konjugierten Steroiden.

Tab. 4. Summe der Oestrogene

Nach Zugabe von	Ausbeute in % eingesetzter ^3H -Aktivität			
	a) ohne G-6-P		b) mit G-6-P	
	frei	konjugiert	frei	konjugiert
7α - ^3H -DHEA	0.92		2.07	
7α - ^3H -DHEA- sulfat	0.85	0.83	1.75	2.00
7α - ^3H -DHEA- sulfatid	2.25	1.83	2.82	3.87

4. Ausbeute an Oestrogenen

Tab. 4 ist als ein Auszug der Tabellen 1, 2 und 3 zu betrachten. In ihr wurden die entstandenen Oestrogene: Oestron, Oestradiol und Oestriol zusammengefaßt. Tab. 4a zeigt die Ergebnisse ohne Glucose-6-phosphat-Zusatz, Tab. 4b die Ergebnisse mit Glucose-6-phosphat-Zusatz.

IV. Diskussion

Vergleicht man die Ergebnisse der Tab. 1a mit denjenigen der Tab. 1b, so ergeben sich deutlich Unterschiede als Folge des Zusatzes von Glucose-6-phosphat. So steht dem Androstendiol-Wert von 2,16% in Tab. 1a ein mehr als doppelt so hoher Wert von 5,94% in der Tab. 1b gegenüber. Auch der Androstetriol-Wert zeigt mit 0,50% in Tab. 1a und 1,33% in Tab. 1b eine große Differenz. Bei der Oestradiol-Aktivität finden wir in Tab. 1b mit 1,25% einen mehr als fünfmal so hohen Wert wie in Tab. 1a, wo 0,23% ^3H -Aktivität gemessen wurden, und bei den Oestriol-Werten treffen wir in Tab. 1a auf 0,20% und in Tab. 1b auf 0,68%.

Dagegen ist der Androstendion-Wert bei der Probe ohne Glucose-6-phosphat-Zusatz mit 1,80% fast sechsmal so hoch wie bei der Probe mit Glucose-6-phosphat-Zusatz, wo der Wert 0,32% beträgt. Auch der Oestron-Wert liegt mit 0,49% in der Tab. 1a höher als in Tab. 1b mit 0,14%.

Es finden sich somit im Falle von Androstetriol, Androstendiol, Oestradiol und Oestriol bei den Proben mit Glucose-6-phosphat-Zusatz weit höhere Werte als bei den Proben ohne Glucose-6-phosphat-Zusatz, während die Ergebnisse bei Androstendion und Oestron sich umgekehrt verhalten.

Wie aus Tab. 1 ersichtlich, konnten außer den freien Verbindungen auch ein geringer Prozentsatz konjugierter Steroide isoliert werden. Das Auftreten markierter Konjugate weist auf das Vorhandensein einer Sulfokinase hin, welche freie Steroide in ihre Konjugate überführt.

In Tab. 2 sind die Ergebnisse der Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA-sulfat aufgeteilt in isolierte freie und konjugierte Steroide.

Bei Zusatz von Glucose-6-phosphat fand man in der Fraktion freier Steroide wieder weniger DHEA, dafür aber mehr Androstendiol, Androstentriol, Oestradiol und Oestriol.

Sinngemäße Unterschiede brachte die Analyse der Steroid-Konjugate nach Inkubation mit und ohne Glucose-6-phosphat.

Vor allem aber läßt sich feststellen, daß fast die Hälfte des konjugierten DHEA's in freies DHEA und seine Metaboliten umgewandelt wurde, unabhängig davon, ob den Proben Glucose-6-phosphat zugesetzt worden war oder nicht. Dieser hohe Prozentsatz auftretender freier Steroide kennzeichnet die weitgehende Hydrolyse des DHEA-sulfats durch placentare Sulfatase.

Vergleicht man nun die freien Metaboliten der Tab. 2a und 2b miteinander, so findet man ähnliche Ergebnisse wie in den Tab. 1a und 1b.

Auch bei der Inkubation von Placentahomogenat mit 7α - ^3H -DHEA-sulfatid kam es zu einer bemerkenswerten Spaltung des Konjugats, unabhängig vom Zusatz des Glucose-6-phosphats. Rund ein Drittel des Konjugats wurde im Verlauf der Inkubation hydrolysiert.

Wie bei den Versuchen 1 und 2 stieg der Anteil der reduzierten Verbindungen oder der hydrolysierten Steroide nach Zusatz von Glucose-6-phosphat erheblich an. Demgegenüber kam es zu einem Abfall der 17-Oxosteroide. Wird doch das unter dem Einfluß der Glucose-6-phosphatdehydrogenase aus NADP^+ gebildete NADPH für die Reduktion der 17-Oxogruppe

wie für die Hydroxylierung an C-16 des Steroidmoleküls oder an C-19 benötigt. Auch die 17 β -Hydroxysteroidoxidoreduktase, die z. B. DHEA in Androstendiol überführt, bedient sich des NADPH's als Coenzym. Daß die Unterschiede nicht größer sind, ist möglicherweise einer partiellen Hemmung der Glucose-6-phosphatdehydrogenase durch DHEA oder DHEA-sulfatid zuzuschreiben, gleichgültig ob das freie Steroid als solches zugesetzt wurde oder unter dem Einfluß der Sulfataseaktivität aus Sulfat oder Sulfatid entstand. Ein kompliziertes Ineinandergreifen der angedeuteten Reaktionen bestimmt somit die Aktivität der Glucose-6-phosphatdehydrogenase und zugleich den Stoffwechsel der als Inhibitoren bekannten Verbindungen DHEA und DHEA-sulfatid.

Addiert man die Oestrogenfraktionen der einzelnen Experimente, wie dies in Tab. 4 geschah, so kommt man zu folgenden Ergebnissen:

Insgesamt fanden sich an Oestrogenen bei den Proben ohne Glucose-6-phosphat-Zusatz nach Zugabe von 7 μ -³H-DHEA zum Placentahomogenat 0,92%, nach Zusatz von 7 μ -³H-DHEA-sulfat 0,85% freie und 0,83% konjugierte Oestrogene, zusammen also 1,68% und nach Zusatz von 7 μ -³H-DHEA-sulfatid 4,08% Oestrogene, die sich aufteilten in 2,25% freie und 1,83% konjugierte Steroide.

Bei den Proben mit Glucose-6-phosphat-Zusatz wurden nach Zugabe von 7 μ -³H-DHEA 2,07% der Tritium-Aktivität in Oestrogenen isoliert, nach Zusatz von 7 μ -³H-DHEA-sulfat waren es 3,75%, wobei man 1,75% bei den freien und 2,00% bei den konjugierten Oestrogenen fand, und bei Zugabe von 7 μ -³H-DHEA-sulfatid waren es 6,69%, von denen 2,82% zu den freien und 3,87% zu den konjugierten Oestrogenen gehörten.

Die für eine normale Entwicklung des Feten notwendige Oestrogenproduktion - sei es das mengenmäßig überwiegende Oestriol oder ein anderes phenolisches Steroid - hängt demnach auch von der Aktivität der Glucose-6-phosphatdehydrogenase ab, die für die Bereitstellung des erforderlichen NADPH's sorgt, zugleich aber durch das wichtigste Substrat der Oestrogen-biosynthese gehemmt und damit reguliert wird. Eine erhöhte Stoffwechselaktivität im Pentosephosphatzyklus liefert zwar viel NADPH, entzieht jedoch der Placenta die Vorstufe für die Biosynthese der Oestrogene, das DHEA oder seine Sulfokonjugate, während im umgekehrten Falle zwar die Vorstufe in ausreichendem Maße verfügbar ist, das notwendige NADPH für die Umwandlung in Oestrogene aber fehlt. Erst das sinnvolle Gleichgewicht aller beteiligten Reaktionen gewährleistet die optimale Funktion.

V. Zusammenfassung

Um die Umwandlung von DHEA, das einerseits als Substrat für die Oestrogensynthese dient, andererseits die Glucose-6-phosphatdehydrogenase und damit die NADPH-produktion hemmt, im Placentagewebe zu verfolgen, wurde homogenisiertes Placentagewebe mit ^3H -markiertem DHEA und seinen Konjugaten DHEA-sulfat und DHEA-sulfatid und NADPH vor und nach Glucose-6-phosphat-Zusatz inkubiert.

Aus den Inkubaten isolierte man verschiedene C_{19} - und C_{18} -Steroide. Es zeigte sich, daß bei erhöhter Glucose-6-phosphatdehydrogenase-Aktivität durch Zugabe von Glucose-6-phosphat erwartungsgemäß eine Zunahme der Reduktion von DHEA zu Androstendiol, wie auch der Hydroxylierung an C-16 zu Androstentriol oder der Bildung von Oestrogenen eintrat.

VI. Literaturübersicht

- 1 BARGMANN, W.
Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. 6. Aufl., Stuttgart 1967, 591-602.
- 2 BAULIEU, E.E.
Studies on Conjugated 17-Ketosteroids in a Case of Adrenal Tumor. J. clin. Endocr. 22,1, (1962), 501-509.
- 3 BAULIEU, E.E.
Three Sulfate esters of 17-Ketosteroids in the Plasma of Normal Subjects and after Administration of ACTH. J. clin. Endocr. 20,1, (1960), 900-903.
- 4 BAULIEU, E.E., CORPECHOT, C., DRAY, F. u. a.
An Adrenal-Secreted "Androgen": Dehydroisoandrosterone-Sulfate. Its Metabolism and a Tentative Generalization on the Metabolism of Other Steroid Conjugates in Man.
Recent Progr. Hormone Res. 21, (1965), 411.
- 5 BAULIEU, E.E., DRAY, F.
Conversion of H³-Dehydroisoandrosterone (3 β -Hydroxy- Δ^5 -androst-17-one) Sulfate to H³-Estrogens in Normal Pregnant Women.
J. clin. Endocr. 23, (1963), 1298.
- 6 BOLTE, E., MANCUSO, S., ERIKSON, C., u. a.
Studies on the aromatisation of neutral steroids in pregnant women. I. Aromatisation of C₁₉-steroids by placentas perfused in situ.
Acta endocr. 45, (1964), 535-559.

- 7 DICZFALUSY, E.
Das Verhalten von Choriongonadotropin und Oestrogenen in der menschlichen Placenta.
3. Symposium Dtsch. Ges. Endokrinol. Berlin 1956, 147-159.
- 8 DICZFALUSY, E.
In vivo biogenesis and metabolism of oestrogens in the fetoplacental unit. Exc. Med. Found. Congr. Ser. 83, (1965), 732-736.
- 9 DÖLLEFELD, E., BREUER, H.
Vorkommen, Biogenese und Stoffwechsel von Steroidsulfaten. Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. 14, (1966), 194-294.
- 10 DORFMAN, R.J., UNGAR, F.
Metabolism of Steroid Hormones. New York u. London 1965, 414f., 545, 559, 573, 603.
- 11 HARPER, M.J.K.
Estrogenic Effects of Dehydroepiandrosterone and Its Sulfate in Rats. Endocrinology 84, (1969), 229-235.
- 12 HENI, F.
Erkrankungen der Nebennierenrinde, aus:
Lehrbuch der Inneren Medizin, hrsg. v.
Gross, R., Jahn, D., Stuttgart 1966, 771-786.
- 13 KAISER, R.
Anatomie und Physiologie der Fortpflanzung, aus: Lehrbuch der Geburtshilfe, 7. Aufl., hrsg. v. Martius, G., Stuttgart 1971, 30-32.

- 14 KELLIE, A. J.
The metabolism of steroid conjugates:
androstenedione sulphate and glucuronoside.
Journal of Endocrinology 22,1, (1961), I.
- 15 KIRSCHNER, M.A., WIKVIST, N., DICZFALUSY, E.
Studies on Oestriol Synthesis from Dehydroepi-
androsterone Sulphate in Human Pregnancy.
Acta endocrinol. 53, (1966), 584-597.
- 16 KITCHIN, J.D., OUYANG, P.C., u. a.
Utilization of precursor steroids in placental
progesterone synthesis. Amer. J. Obstet. Gynec.
103, (1969), 48-55.
- 17 KNAPSTEIN, P., RINDT, W., u. a.
Plasmahalbwertszeit, Exkretion und direkter
Metabolismus von $[7\alpha\text{-}^3\text{H}]\text{-Androstenedion-}[^{14}\text{C}]\text{-}$
glucuronid bei Menschen. Hoppe-Seyler's Z.
physiol. Chem. 348, (1967), 93-99.
- 18 LOGAN, G.G., WARREN, J.C.
Hydrolysis of Dehydroepiandrosterone-Sulphate
by Human Placental Steroid-3 β -Sulfatase in
 ^{18}O -Water. Biochem. J. 114, (1969), 707-710.
- 19 MACDONALD, P.C., CHAPDELAINE, A., u. a.
Studies on the Secretion and Interconversion
of the Androgens. III. Results Obtained After
the Injection of Several Radioactive C_{19} -
Steroids, Singly or as Mixtures.
J. clin. Endocr. 25,2, (1965), 1557-1568.

- 20 NAKAYAMA, T., ARAI, K., SATOH, K., u. a.
Pathway of the Formation of Estriol in the
Feto-Placental Unit. Endocr. jap. 15, (1968),
255-257.
- 21 NAKAYAMA, T., ARAI, K., TABEI, T., u. a.
Biosynthesis of Estrogens in in vitro Perfusion
of the Human Placenta. Endocr. jap. 14, (1967),
251-258.
- 22 NAKAYAMA, T., ARAI, K., YANAIHARA, T., u. a.
Formation of Estrogens in the Feto-Placental
Compartments. Endocr. jap. 15, (1968), 135-143.
- 23 OERTEL, G.W.
Dehydroepiandrosteron in biochemischer und
klinischer Sicht. Arzneimittel-Forsch. 21,
(1971), 543-545.
- 24 OERTEL, G.W.
Über Steroid-konjugate im Plasma. I. Isolierung
von Sulfat-, Phosphat- und Lipoid-haltigen
17-Ketosteroidkonjugaten aus menschlichem Blut-
plasma. Biochem. Z. 334, (1961), 431-440.
- 25 OERTEL, G.W.
Über Steroidkonjugate im Plasma. XII. Plasma-
spiegel verschiedener Steroidkonjugate im
Nebennierenvenen-, Lebervenen- und Femoralvenen-
blut. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 336,
(1964), 236-247.

- 26 OERTEL, G.W., GROOT, K., WENZEL, D.
On lipophile steroid conjugates. II. In vivo biogenesis of oestrogens from biosynthetic dehydroepiandrosterone-sulfatide. *Acta endocrinol.* 49, (1965), 533-540.
- 27 OERTEL, G.W., KNAPSTEIN, P., TREIBER, L.
Über Steroid-konjugate im Plasma. XIX. Direkter und indirekter Metabolismus von i.v. verabreichtem ^3H - und ^{35}S -markiertem Androstenolon-Sulfat. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 345, (1966), 221-235.
- 28 OERTEL, G.W., MENZEL, P.
Ausscheidung von Oestrogenen und Testosteron nach Gabe von Dehydroepiandrosteron-Sulfat. *Allgemeine Arzneimittelforschung* 20,1, (1970), 1865-1866.
- 29 OERTEL, G.W., MENZEL, P., WENZEL, D.
Über Steroidkonjugate im Plasma. XXI. Zur Isolierung von Steroid-Sulfatiden aus biologischem Material. *Journal of Steroid Biochemistry* 1, (1969), 17-23.
- 30 OERTEL, G.W., TREIBER, L.
Vorkommen und Stoffwechsel von C_{19} -Steroiden in der Haut. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 349, (1968), 11.
- 31 OERTEL, G.W., TREIBER, L., RINDT, W.
Direct Aromatization of C_{19} -Steroids Sulphates. *Experientia* 23, (1967), 97-98.

- 32 ROBERTS, K.D., VANDE WIELE, A.L., LIEBERMANN, J.
The Conversion in Vivo of Dehydroisoandrosterone
Sulfate to Androsterone and Etiocholanolone
Glucuronidates. J. biol. Chem. 236,3, (1961)
2213-2215.
- 33 SHAW, D.A., DALZIEL, E.M., DONNELLY, V.J.O.
Biogenesis of Oestrogens from ^{14}C -Testosterone
in the Mitochondrial Fraction of the Human
Placenta. Biochem. J. 113, (1969), 737-739.
- 34 SIITERI, P.K., MACDONALD, P.C.
Oestrogen Formation in Human Pregnancy.
J. clin. Endocr. 26, (1966), 751-761.
- 35 SIMPF, E.B.
Metabolism of pregnanolone by the human placenta.
Amer. J. Obstet. Gynec. 104, (1969), p. 605-606.
- 36 SMITH, W.S., RYAN, K.J.
Biogenesis of Estrogens by the Human Ovary:
The Conversion of Androstendion-4- C^{14} to
Estrone and Estradiol in High Yield.
Endocrinology 69, (1961), 869-872.
- 37 SOLOMON, S., BIRD, C.E., LING, W., u. a.
Formation and metabolism of steroids in the
fetus and placenta. Recent Progr. Hormone Res.
23, (1967), 297-347.
- 38 SOLOMON, S., BIRD, C.E., u. a.
Progesterone Metabolism in the Fetal-Placental
Unit. Excl. Med. Found. Congr. Ser. 83, (1965),
721-726.

- 39 SCHNEIDER, M.

Einführung in die Physiologie des Menschen,
15. Aufl., Berlin-Heidelberg-New York 1966,
416-419.

- 40 STAEMMLER, H.-J.

Fibel der gynäkologischen Endokrinologie,
Stuttgart 1969, 41-57.

- 41 SZABO, A., GRIMALDI, R.D.

The Metabolism of the Placenta. Advances
Metabol. Dis. 4, (1970), 185-228.

- 42 TABEI, T.

Biosynthesis of Estrogens in the Human Placenta.
Acta obstet. gynec. jap. 17(1), (1970), 1-10.

- 43 THOMSEN, K., WILLEMSSEN, R.

Histochemische Untersuchungen über die Produk-
tionsorte der Choriongonadotropine. Acta
endocr. 30, (1959), 161-174.

- 44 TOWNSEND, L., KENNETH, J.R.

In Vitro Metabolism of Pregnenolon-7 α -³H,
Progesterone-4-¹⁴C and Androstendione-4-¹⁴C
by Rat Placental Tissue. Endocrinology 87,
(1970), 151-155.

- 45 TREIBER, L., OERTEL, G.W.

Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Di-
nitrophenylhydrazin. I. Beschreibung der
Methode. Z. klin. Chemie u. Biochemie 5, (1967),
83-86.

- 46 VILLEE, D.B., VILLEE, C.A.
Synthesis of Corticosteroids in the Feto-
Placental Unit. Exc. Med. Found. Congr. Ser.
83, (1965), 709-714.
- 47 WARREN, J.C., TIMBERLAKE, C.E.
Steroid Sulfatase in the Human Placenta.
J. clin. Endocrinol. 22, (1962), 1148-1151.
- 48 WATZKA, M.
Kurzlehrbuch der Histologie und mikroskopischen
Anatomie des Menschen. 3. Aufl., Stuttgart 1964,
232-236.
- 49 WOTIZ, H.H., DAVIS, J.W., LEMON, H.M., GUT, M.
Studies in Steroid Metabolism. V. The Conver-
sion of Testosterone-4-¹⁴C to Estrogens by
Human Ovarian Tissue. J. biol. Chem. 222,
(1956), 487-495.
- 50 WU, C.H., TOUCHSTONE, J.C., FLICKINGER, G.L.
Estrogen formation in vitro by fetoplacental
tissues of midpregnancy. Amer. J. Obstet.
Gynec. 102, (1968), 862-866.
- 51 WULF, K.-H.
Die regelrechte Anlage und Entwicklung des
Schwangerschaftsproduktes, aus: Lehrbuch der
Geburtshilfe, 7. Aufl., hrsg. v. Martius, G.,
Stuttgart 1971, 40-52.

Meinen herzlichen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. G.W. Oertel für die Überlassung des Themas und für seinen Rat bei der Planung, Ausführung und Diskussion des Versuches aussprechen.

Ebenso möchte ich an dieser Stelle Herrn Dr. Hofmann und den anderen Mitarbeitern der Endokrinologischen Abteilung der Universitäts-Frauenklinik für ihre Ratschläge bei der Durchführung der labortechnischen Arbeiten danken.

Lebenslauf

Am 7. 12. 1947 wurde ich, Angelika Kreuzer, geb. Wagner, als erstes Kind des Mühlenkaufmanns Hugo Wagner und dessen Ehefrau Agnes, geb. Damm, in Landau/Pfalz geboren.

Meine Kindheit verbrachte ich in Offenbach b. Landau/Pfalz, dem ständigen Wohnsitz meiner Eltern. Ich habe noch zwei Brüder, 1949 und 1953 geboren, die beide noch in Ausbildung sind.

Von 1954 bis 1958 besuchte ich in Offenbach die Volksschule und wechselte 1958 auf das Private Neusprachliche Gymnasium der Englischen Fräulein in Landau über, wo ich im Herbst 1966 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1967 begann ich das Studium der Medizin an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Im Frühjahr 1968 bestand ich dort die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Herbst 1969 die Ärztliche Vorprüfung.

Im Mai 1971 habe ich geheiratet.

Am 8. 12. 1972 habe ich die Ärztliche Prüfung bestanden.

